Kinetik und Metabolismus des Digitoxins nach oraler und intravenöser Applikation beim Menschen

Paetzold, Renate
Diss. Düsseldorf
1982

Meinen Eltern und meinem Mann gewidmet

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr. Wirth

Korreferent
gez.: Priv.-Doz. Dr. Peters

Aus dem Institut für Pharmakologie
der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. Kurt Greeff)

Kinetik und Metabolismus des Digitoxins nach oraler und intravenöser Applikation beim Menschen

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakutät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Renate Pätzold

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0057

Inhaltsverzeichnis Seite

A Einleitung 4
B Aufgabenstellung 6
C Methoden 6

1) Durchführung der Versuche 6
Tabelle I: Daten der Versuchspersonen ... 6
2) Radioimmunologische Glykosidbestimmung 7
3) Chloroformextraktion 8
4) Hochdruckflüssigkeitschromatographie 9
Abbildung 1: Leitchromatogramm der HPLC ... 10
5) Glucuronidase/Sulfatase Spaltung 11
D Ergebnisse 12
1) Eliminationskinetik von Digitoxin 12
Abbildung 2: Mittlere kumulative Urinausscheidung von 0,5 mg Digitoxin per os und i.v. 13
Abbildung 3: Kumulative Urinausscheidung von 0,5 mg Digitoxin per os .. 14
Abbildung 4: Kumulative Urinausscheidung von 0,5 mg Digitoxin iv..... 15
Tabelle II a: Digitoxin einmalig oral/kumulative Harnausscheidung 16
Tabelle II b: Digitoxin einmalig i.v./kumulative Harnausscheidung 17
Tabelle III: Kinetische Daten der renalen Ausscheidung von Digitoxin ... 18
2) Bestimmung der Metaboliten des Digitoxins .. 19
Tabelle IV: Digitoxin- und Digoxingehalt im Nativharn und im $CHCl_3$-extrahierten Harn nach einmaliger oraler Gabe 23
Tabelle V: Digitoxin- und Digoxingehalt im Nativharn und im $CHCl_3$-extrahierten Harn nach einmaliger i.v.-Applikation 24

Seite

Tabelle VI: Renale Ausscheidung von chloroformlöslichen mittels HPLC getrennten Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach oraler Gabe 25

Tabelle VII: Renale Ausscheidung von chloroformlöslichen mittels HPLC getrennten Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach i.v. Gabe 26

Tabelle VIII: Mittlere renale Ausscheidung chloroformunlöslicher Digitoxin- bzw. Digoxinmetaboliten, sowie der chloroformlöslichen Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach einmaliger oraler Gabe 27

Tabelle IX: Mittlere renale Ausscheidung chloroformunlöslicher Digitoxin- bzw. Digoxinmetaboliten, sowie der chloroformlöslichen Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach einmaliger i.v. Gabe 28

Tabelle X: Mittleres prozentuales Ausmaß der Metabolisierungswege des Digitoxins im Urin am 1. und 2. Tag nach einmaliger oraler bzw. i.v. Gabe 30

E Diskussion 31

1) Eliminationskinetik von Digitoxin 31

Tabelle XI: Renale Elimination von Digitoxin nach einmaliger Gabe beim Menschen (Literaturauswahl) ... 32

Seite

2) Metabolismus von Digitoxin 33
a) unverändertes Digitoxin 33
b) Zuckerkettenabspaltung bzw. Hydrolyse 34
c) Konjugation 34
d) Hydroxylierung 35
a) - d) Tabelle XII: Metabolitenspektrum von Digitoxin im Urin nach einmaliger Gabe beim Menschen (Literaturauswahl). 36
d) Hydrierung 37
f) Ausmaß der Metabolisierungsschritte 37
F Zusammenfassung 38
G Literaturverzeichnis 40
H Dank an den Referenten 43
I Lebenslauf 44

A Einleitung

Die Herzglykoside nehmen seit mehr als 200 Jahren eine dominierende Stellung in der Behandlung der Herzinsuffizienz ein.

Erste Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Digitoxin beim Menschen wurden in den Fünfziger Jahren von Friedman u. Mitarbeitern (1/2) durchgeführt. Okita u. Mitarb. (3/4) veröffentlichten erste Versuchsergebnisse über den Metabolismus von C^{14}-markiertem Digitoxin beim Menschen.

Durch Untersuchungen der letzten Jahre hat man die Erkenntnis gewonnen, daß bei der Verstoffwechselung von Digitalisglykosiden strukturändernde und strukturaufbauende Reaktionen stattfinden können, die die Lipoidlöslichkeit vermindern und die Wasserlöslichkeit erhöhen (Rietbrock, (5)).

Folgende Metabolisierungsschritte des Digitoxins können ablaufen:

1) Abspaltung der Digitoxosen
   Durch schrittweise Abspaltung der Digitoxosen (Repke, (6)) nach vorhergehender Dehydrierung (Schmoldt u. Rohloff, (6)) entstehen Digitoxigenin-bis-digitoxosid und Digitoxigenin-mono-digitoxosid. Aus dem Monodigitoxosid entsteht nach Abspaltung der Digitoxose und Epimerisierung 3-Epidigitoxigenin, das konjugiert wird (Hermann u. Repke, (8)).
2) Konjugation
   Mit Schwefelsäure und Glukuronsäure werden in erster Linie Monoside und Aglukone konjugiert (Rietbrock, (5)).
3) Hydroxylierung
   Digitoxin wird durch 12-ß-Hydroxylierung zu Digoxin metabolisiert (Ashley, (9)).
4) Hydrierung
   Durch Sättigung der C,C-Doppelbindung zwischen C_{20} und C_{22} entsteht Dihydrodigitoxin und -digoxin. Die Sättigung erfolgt durch intestinale Mikroorganismen, wahrscheinlich Anaerobier aus den unteren Darmabschnitten (Rietbrock, (5)

Obwohl die Metabolisierungsschritte z.T. gut dokumentiert sind, liegen keine einheitlichen Vorstellungen bezüglich der Qualität der entstehenden Metaboliten vor, da die Untersuchungen wegen eines nicht einheitlichen Versuchsaufbaus, unterschiedlicher Analysemethoden und interindividueller Differenzen im Metabolismus schwer zu vergleichen sind (Bodem und Ochs, (10)).

Unser Ziel war es, weitere Informationen über die Kinetik und den Metabolismus von Digitoxin nach einer einmaligen oralen bzw. intravenösen Gabe von 0,5 mg zu gewinnen.

B Aufgabenstellung

Folgende Untersuchungen wurden bei dieser Arbeit durchgeführt:

1) Die radioimmunologische Bestimmung der Elimination von Digitoxin im Urin von Versuchspersonen nach einer einmaligen intravenösen und oralen Gabe von Digitoxin.
2) Die radioimmunologische Bestimmung der chloroformlöslichen und -unlöslichen Metaboliten von Digitoxin nach Trennung der chloroformlöslichen Substanzen mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie.

C Methoden

1) Durchführung der Versuche

Die Versuche wurden an 6 männlichen, nieren- und lebergesunden Probanden mit normalen Herz- und Kreislauffunktionen durchgeführt, deren Daten in Tab. I angegeben sind.

Tab. I: Daten der Versuchspersonen (VP)

VP	Alter	Gewicht	Größe
P	24	70	176
A	25	70	182
K	22	70	188
G	22	80	194
L	24	74	180
B	23	82	180
	23	74	183 (Mittelwerte)

3 Probanden erhielten einmalig 0,5 mg Digitoxin (Digimerck^{R}) oral und 7 Wochen später die gleiche Dosis i.v.. Den übrigen 3 Probanden wurde zunächst 0,5 mg Digitoxin i.v. und später oral verabreicht.

Der ausgeschiedene Harn wurde bis zur 6. Stunde, von der 6. bis 12., der 12. bis 24. Stunde und von da an 24-stündig über einen Zeitraum von insgesamt 14 Tagen gesammelt. In allen Portionen wurde der Digitoxingehalt und in den Harnproben der ersten beiden Tage der Gehalt an Metaboliten des Digitoxins radioimmunologisch bestimmt.

2) Radioimmunologische Glykosidbestimmung

Die Grundlage des Radioimmunassay ist die Verdrängung radioaktiv markierten Glykosids aus einem Antigen-Antikörper-Komplex durch unmarkiertes Glykosid. Durch Kopplung von Digitoxin, bzw. Digoxin mit Humanalbumin erhält man ein Antigen, das, bei Kaninchen injiziert, die Bildung eines Antikörpers bewirkt. Der Antikörper ist sowohl gegen Humanalbumin als auch gegen das Glykosid gerichtet.
Wird eine bestimmte Menge ^{3}H-Glykosid mit verdünntem Antiserum zusammengegeben, so entsteht ein Antigen - Antikörper - Komplex. Fügt man unmarkiertes Glykosid hinzu, so wird das ^{3}H-Glykosid konzentrationsabhängig aus der Bindung mit dem Antikörper verdrängt. Das nicht antikörpergebundene Glykosid wird mittels dextranummantelter Aktivkohle absorbiert und abzentrifugiert. Im Überstand wird die Radioaktivität gemessen und die unbekannte unmarkierte Glykosidmenge mittels einer Eichkurve bestimmt, die in Abhängigkeit von der eingesetzten Antiserum- und ^{3}H-Glykosidmenge bei jedem Radioimmunassay neu erstellt werden muß. Das nach der Methode von Verspohl (11) gewonnene Antiserum gegen Digitoxin besaß gleiche Affinität gegenüber Digitoxin, Digitoxigeninmonodigitoxosid und Digitoxigeninbis-digitoxosid. Digoxin wurde weniger als 10 % und Digitoxigenin zu ca. 25 % gebunden. Das Digoxin-Antiserum, das nach der Methode von Butler und Chen (12) gewonnen wurde, besaß gleiche Affinität gegenüber Digoxin, Digoxin-mono-digitoxosid und Digoxin-bis-digitoxosid.

Die Reaktionsansätze enthielten 1 ml Puffer (8,77 mg NaCl + 1,74 mg K_2HPO_4), pH 7,4, unter Zusatz von 2 mg Humanalbumin, 1 - 2 ng ^{3}H-Digitoxin bzw. -Digoxin und 200 µl Harn (bzw. 100 - 200 µl Chloroform- oder Acetonitrilextrakt). Nach Zugabe des Antiserums (50 - 250 µl) wurde der Ansatz 24 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert, danach mit 0,5 ml dextranbeschichteter Aktivkohlesuspension (5 g Aktivkohl (Merck) auf 100 ml Puffer und 0,5 g Dextran auf 100 ml Puffer zu gleichen Teilen gemischt) versetzt und nach 10 min bei 4000 U/min 5 min zentrifugiert. Die Radioaktivität des Antigen-Antikörper-Komplexes wurde in 1 ml des Überstandes unter Zugabe von 8 ml PCS-Szintillations-Fluid (Searle-Amersham) in einem Tricarb-Szintillationsspektrometer (Packard, Modell 3003) gemessen (weitere Einzelheiten der Methodik bei Strobach (13) und Greeff und Mitarb. (14). Von den so erhaltenen Werten wurde die unspezifische Bindung (Leerwert) abgezogen, die die Radioaktivität eines Ansatzes ohne Antiserumzusatz wiedergibt.

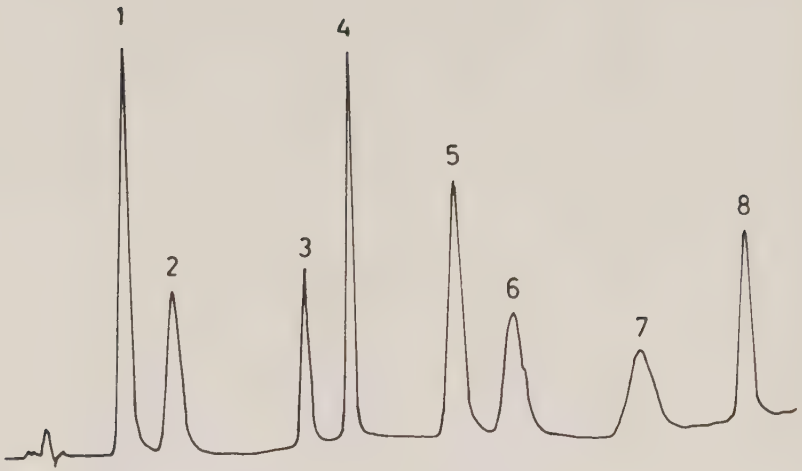
3) Chloroformextraktion

Um die chloroformunlöslichen bzw. hydrophilen Metaboliten des Digitoxins (z.B. Konjugate mit Schwefelsäure oder Glucuronsäure) von den chloroformlöslichen bzw. hydrophoben (unverändertes Digitoxin, Bisdigitoxosid, Monodigitoxosid bzw. Digitoxigenin) zu trennen, wurden 20 ml Harn mit 20 ml und 2 mal 10 ml Chloroform ausgeschüttelt. Nach jedem Ausschütteln wurden die Chloroformphasen zentrifugiert, gesammelt, eingedampt und mit 1,5 ml Äthanol (absolut) aufgenommen. Nach weiterem Zentrifugieren wurde die alkoholische Lösung mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie aufgetrennt.

4) Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Es wurden jeweils 100 - 200 µl der alkoholischen Lösung in den Hochdruckflüssigkeitschromatographen (HPLC/ Hewlett Packard Liquid Chromatograph 1084 B) mit der Säule RP-18 10 µm injiziert. Als Fließmittel wurde Wasser-Acetonitril (23 % Acetonitril) verwandt bei einem Fluß von 2 ml pro Minute. Die Lösungsmitteltemperatur von Wasser betrug 80°C und von Acetonitril 60°C bei einer Ofentemperatur von 40°C. Die Wellenlänge des Detektors war 220 nm, der Papiervorschub 1 cm pro Minute und die Verstärkung Stufe 9. Der Lösungsmittelgradient verlief folgendermaßen: bis 4 Minuten 23 %, von 4 bis 7 Minuten 35 %, von 7 bis 14 Minuten 35 % und von 14 bis 18 Minuten 50 % Acetonitril. Die Retentionszeiten der Verbindungen Digitoxigenin, Digitoxigeninmonodigitoxosid, Digitoxigeninbisdigitoxosid, Digitoxin, sowie Digoxigenin, Digoxigeninmonodigitoxosid, Digoxigeninbisdigitoxosid und Digoxin wurden mittels eines Leitchromatogramms unter Verwendung authentischer Verbindungen ermittelt (siehe Abb. 1).

Die Metaboliten wurden aus dem Eluat der Proben durch einen Fraktionensammler abgetrennt. Alle dazwischen liegenden Fraktionen wurden vereinigt und der darin bestimmte Glykosidgehalt als "nicht identifizierbare Metaboliten" bezeichnet. Diese Fraktion mußte wegen des großen Volumens vor der radioimmunologischen Bestimmung lyophilisiert und mit 1,5 ml Äthanol (absolut) aufgenommen werden. Der Metabolitengehalt der übrigen Fraktionen wurde direkt radioimmunologisch bestimmt.



1: Digoxigenin
2: Digoxigeninmonodigitoxosid
3: Digoxigeninbisdigitoxosid
4: Digoxin
5: Digitoxigenin
6: Digitoxigeninmonodigitoxosid
7: Digitoxigeninbisdigitoxosid
8: Digitoxin

Abb. 1: Leitchromatogramm der HPLC (unter Verwendung authentischer Verbindungen ermittelt, Fluß:2 ml/min, Papiervorschub: 1 cm/min, Lösungsmittelgradient: bis 4 min 23 %, von 4 bis 7 min 35 %, von 7 bis 14 min 35 %, von 14 bis 18 min 50 % Acetonitril). Retentionszeit (RT): (1) 2,92, (2) 4,09, (3) 7,26, (4) 8,33, (5) 10,85, (6) 12,24 (7) 15,28, (8) 17,81.

5) Glucuronidase/Sulfatase Spaltung

In einigen Harnproben fanden sich im chloroform-extrahierten Urin radioimmunologisch nachweisbare hydrophile Glykosidverbindungen, die mit den Enzymen Glucuronidase und Sulfatase aufgespalten wurden. Dazu wurden 1,5 ml des mit Chloroform extrahierten Harns in humanalbuminhaltigem Puffer gelöst (4 mg Albumin/ml) und auf ein Volumen von 2 ml gebracht. Eine Kontrolle wurde mit 1 mg Phenolphthaleinglucuronid und 1,5 ml Puffer statt Harnextrakt angesetzt. Die Reaktionsansätze wurden mit Essigsäure auf pH 4,4 - 4,6 eingestellt, mit 0,1 ml Glucuronidase-Sulfatase Enzymmischung versetzt und 20 Stunden bei 30°C im Wasserbad inkubiert. Die Enzymaktivität wurde im Kontrollansatz durch Nachweis des freigesetzten Phenolphthaleins (Rotfärbung nach Alkalisieren mit Ammoniak) überprüft. Die Ansätze wurden zentrifugiert und die Metaboliten mittels HPLC getrennt. Anschließend erfolgte eine qualitative radioimmunologische Glykosidbestimmung in den einzelnen HPLC-Fraktionen.

D Ergebnisse

1) Eliminationskinetik von Digitoxin nach einer einmaligen intravenösen und oralen Gabe von 0,5 mg Digitoxin

Die Elimination des Digitoxins verlief innerhalb der 14-tägigen Sammelperiode (Abb. 2 - 4) nach oraler und intravenöser Gabe nahezu gleich. Einzelergebnisse der kumulativen Elimination des Digitoxins zeigen die Tabellen II a und b. Die 6 Probanden schieden innerhalb der ersten 24 Stunden nach oraler Applikation geringfügig mehr Digitoxin aus: 13,5 $\pm$ 1,9 µg (2,7 % d. appl. Dosis) im Vergleich zu 11,7 $\pm$ 1,7 µg (2,3 % d. appl. Dosis) nach intravenöser Gabe. Die Gesamtausscheidung in 14 Tagen war nach oraler Gabe etwas niedriger als nach i.v.-Gabe: 75,3 $\pm$ 8,0 µg (15,1 % d. Dosis) im Vergleich zu 77,1 $\pm$ 7,6 µg (15,4 % d. Dosis). Etwas größere Unterschiede ergaben sich bei der Extrapolation der Ausscheidung auf Unendlich: bei oraler Verabreichung wurde eine geringere Menge an Digitoxin berechnet, und zwar 96,0 µg (19,2 % d. Dosis) im Vergleich zu 113,9 µg (22,8 % d. Dosis) nach i.v.-Applikation, wobei die Berechnungsgrundlage die Ausscheidung vom 1. - 14. Tag war. Ließ man die ersten 6 Stunden außer Betracht, ergaben sich bei beiden Applikationsarten etwas niedrigere extrapolierte Werte: oral 90,5 µg (18,1 % d. Dosis) und i.v. 109,8 µg (22,0 % d. Dosis).
Die Halbwertszeit nach oraler Gabe, die anhand der Ausscheidung von der 6. Stunde bis zum 14. Tag ermittelt wurde, war um ca. 25 % niedriger als nach i.v.-Applikation ($T_{50\ oral}$: 158,9 h und $T_{50\ i.v.}$: 209,3 h). Der aus der 14-Tage Ausscheidung berechnete Resorptionsquotient betrug 97,7 % bei oraler Verabreichung (die Ausscheidung nach i.v.-Gabe wurde gleich 100 % gesetzt).
Einzelheiten der renalen Eliminationskinetik sind in Tab. III dargestellt.

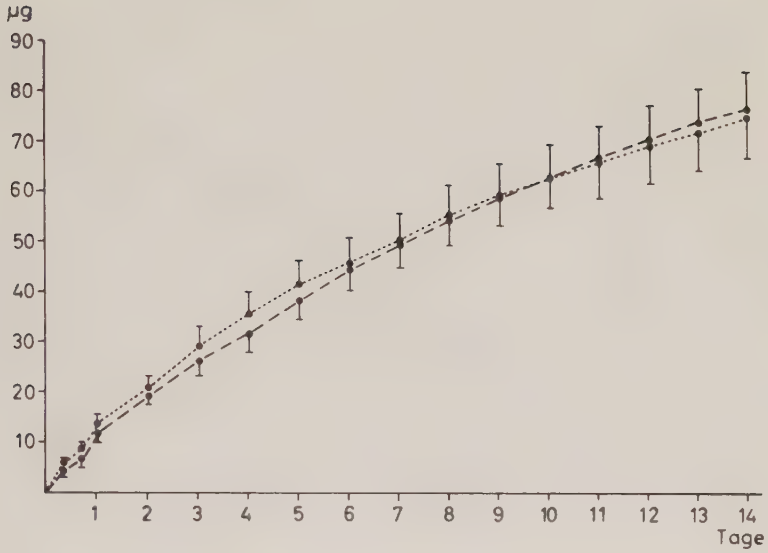


Abb. 2: Mittlere kumulative Urinausscheidung von 0,5 mg Digitoxin per os und i.v. (n = 6).

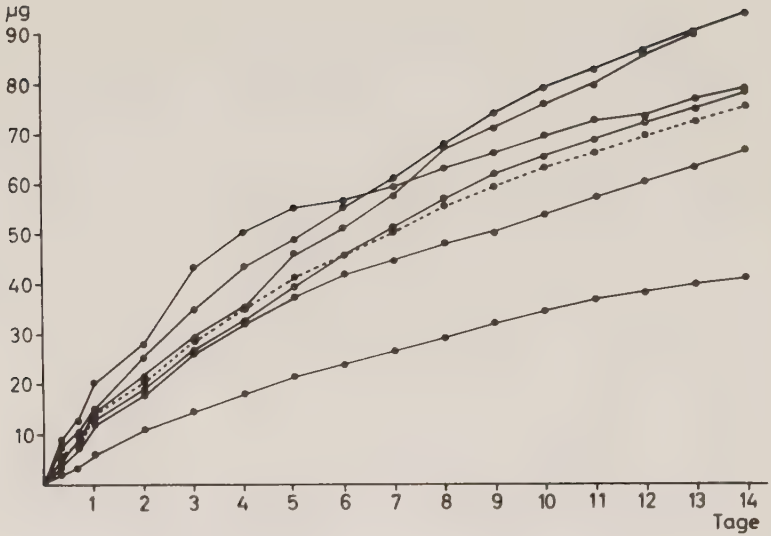


Abb. 3: Kumulative Urinausscheidung von 0,5 mg Digitoxin per os (n = 6).

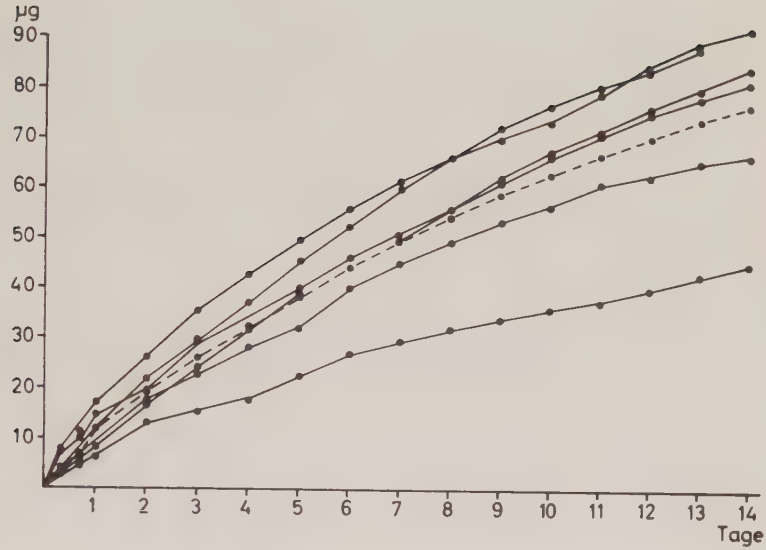


Abb. 4: Kumulative Urinausscheidung von 0,5 mg Digitoxin i.v. (n = 6).

Tab. II a: 0,5 mg Digitoxin einmalig oral / kumulative Harnausscheidung in µg (n = 6)

Proband	0.-6. Std.	6.-12. Std.	12.-24. Std.	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage
P	3,63	7,62	12,21	17,85	26,30	32,85	37,77	42,23
A	4,87	8,18	13,24	18,98	26,55	32,10	39,81	45,79
K	2,07	3,40	6,06	11,09	14,57	18,21	21,40	23,90
G	5,86	9,44	14,11	25,26	32,02	43,56	48,83	55,34
L	7,77	10,63	15,20	21,60	28,92	35,27	46,30	51,29
B	9,10	12,95	20,41	28,23	43,73	50,45	55,16	56,71
$\bar{x}$	5,55	8,70	13,53	20,50	29,18	35,40	41,54	45,87
s	2,6	3,22	4,65	6,02	9,74	11,01	11,7	12,10
$s_{\bar{x}}$	1,06	1,31	1,90	2,46	3,98	4,49	4,78	4,94

Proband	7 Tage	8 Tage	9 Tage	10 Tage	11 Tage	12 Tage	13 Tage	14 Tage
P	44,76	48,14	50,40	53,99	57,38	60,39	63,32	66,93
A	51,61	57,23	62,08	65,67	68,67	72,26	74,75	78,07
K	26,73	29,23	32,39	34,68	36,96	38,39	39,98	41,27
G	61,32	67,59	74,25	79,12	82,72	86,39	89,87	93,55
L	57,76	68,19	71,44	75,90	79,50	86,73	90,06	93,56
B	59,74	63,12	66,22	69,87	72,81	73,16	76,54	78,51
$\bar{x}$	50,32	55,59	59,46	63,15	66,34	69,55	72,42	75,31
s	13,07	14,92	15,68	16,5	16,92	18,19	18,83	19,56
$s_{\bar{x}}$	5,34	6,09	6,4	6,74	6,91	7,43	7,69	7,99

Tab. II b: 0,5 mg Digitoxin einmalig i.v. / kumulative Harnausscheidung in µg (n = 6)

Proband	0.-6. Std.	6.-12. Std.	12.-24. Std.	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage
P	2,45	5,36	12,15	17,69	22,80	28,30	32,21	40,00
A	6,97	9,86	14,50	19,16	29,16	32,88	40,20	46,47
K	2,85	4,41	6,01	13,17	15,33	17,56	22,88	27,02
G	2,86	5,74	11,98	21,58	29,79	37,04	45,78	52,94
L	2,39	4,22	8,26	16,47	24,24	31,95	39,26	44,59
B	7,61	11,16	17,34	26,36	35,73	42,80	49,85	56,10
$\bar{x}$	4,18	6,79	11,7	19,07	26,17	31,75	38,36	44,52
s	2,42	2,96	4,10	4,54	7,01	8,54	9,68	10,35
$s_{\bar{x}}$	0,99	1,21	1,67	1,85	2,86	3,49	3,95	4,23

Proband	7 Tage	8 Tage	9 Tage	10 Tage	11 Tage	12 Tage	13 Tage	14 Tage
P	45,20	49,61	53,69	56,99	61,35	62,80	65,94	66,94
A	51,23	56,34	61,52	66,94	71,49	75,35	78,50	81,19
K	29,64	32,02	34,07	36,21	37,54	40,17	43,02	44,50
G	60,32	66,65	72,48	77,22	81,08	84,12	88,60	92,33
L	50,04	56,29	62,57	67,55	72,08	76,96	80,40	84,94
B	61,95	66,33	70,34	73,99	79,51	85,18	89,93	92,47
$\bar{x}$	49,73	54,54	59,11	63,15	67,17	70,76	74,39	77,06
s	11,73	12,83	13,99	14,92	16,13	17,00	17,62	18,51
$s_{\bar{x}}$	4,79	5,24	5,71	6,09	6,59	6,94	7,19	7,56

Tab. III: Kinetische Daten der renalen Ausscheidung von Digitoxin nach i.v. und oraler Applikation von 0,5 mg. Die Ausscheidung wurde über 14 Tage gemessen, der Resorptionsquotient als Verhältnis der renalen Ausscheidungsmengen berechnet. $n = 6$; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

		0,5 mg Digitoxin oral	0,5 mg Digitoxin i.v.
24-Std. Ausscheidung µg		13,5 ± 1,9	11,7 ± 1,7
% der Dosis		2,7 ± 0,4	2,3 ± 0,3
% der 14-Tage-Ausscheidung		18,0 ± 2,5	15,2 ± 2,2
Gesamtausscheidung in 14 Tagen (µg)		75,3 ± 8,0	77,1 ± 7,6
% der Dosis		15,0 ± 1,6	15,4 ± 1,5
Ausscheidung, extrapoliert auf Unendlich (µg)	a)	96,0	113,9
	b)	90,5	109,8
% der Dosis	a)	19,2	22,8
	b)	18,1	22,0
T 50(h)	b)	158,9	209,3
(Tage)	b)	6,6	8,7
Resorptionsquotient %		97,7	-

a) Ausscheidung vom 1. - 14. Tag

b) Ausscheidung von 6. Std. - 14. Tag

2) Bestimmung der Metaboliten des Digitoxins nach oraler und intravenöser Gabe (Trennung mittels HPLC)

a) Chloroformlösliche Metaboliten:

Nach oraler Applikation ergab sich bei 6 Versuchspersonen im Mittel folgendes Metabolitenspektrum (mittlere prozentuale Metabolitenausscheidung in den Harnproben am 1. und 2. Tag bei 6 Probanden):

8 % Digitoxigenin
7 % Digitoxigeninmonodigitoxosid
8 % Digitoxigeninbisdigitoxosid
40 % Digitoxin
30 % nicht identifiziert
maximal 1 % Digoxin

Das Metabolitenspektrum nach i.v. Verabreichung setzte sich folgendermaßen zusammen:

25 % Digitoxigenin
7 % Digitoxigeninmonodigitoxosid
2 % Digitoxigeninbisdigitoxosid
45 % Digitoxin
21 % nicht identifiziert
maximal 1 % Digoxin

Nach oraler und i.v.-Gabe wurden demnach gleich viel Digitoxigeninmonodigitoxosid (7 %), Digoxin (max. 1 %) und ungefähr gleiche Mengen Digitoxin (45 % und 40 %) ausgeschieden. Nach intravenöser Applikation fanden sich im Vergleich zur oralen Anwendung eine dreifach größere Menge an Digitoxigenin (25 % und 8 %), nur 1/4 der Digitoxigeninbisdigitoxosidmenge (2 % und 8 %) und ca. 1/3 weniger nicht identifizierbare Metaboliten (21 % und 30 %).

b) Chloroformunlösliche Metaboliten:

Nur nach oraler Gabe von Digitoxin wurden bei 2 Versuchspersonen chloroformunlösliche Metaboliten gefunden, die auf alle Versuchspersonen bezogen 7 % des oralen Metabolitenspektrums ausmachten. Nach Glucuronidase/Sulfatase-Spaltung waren Digitoxigenin, Digitoxingeninmonodigitoxosid, Digitoxigeninbisdigitoxosid und Digitoxin qualitativ nachweisbar.
Einzelheiten der Metabolitenausscheidung sind in Tab. IV bis Tab. IX dargestellt.

Die Tabelle IV gibt eine Übersicht über den Gehalt an Digitoxin und Digoxin bzw. Metaboliten im Nativharn und im $CHCl_3$-extrahierten Harn nach oraler Gabe von 0,5 mg Digitoxin. Im Nativharn ist Digitoxin bei allen Probanden am 1. und 2. Tag in größeren Mengen, Digoxin nur bei 4 Probanden und dann nur am 1. Tag in sehr geringen Mengen nachweisbar. Der chloroformextrahierte Harn enthält keine Digoxinmetaboliten, und nur bei 2 Probanden werden Digitoxinmetaboliten in größeren Mengen ausgeschieden.
In der Tabelle V wird der Digitoxin- und Digoxingehalt im Nativharn und im $CHCl_3$-extrahierten Harn nach i.v. Applikation von 0,5 mg Digitoxin angegeben. Digitoxin ist im Nativharn wie nach oraler Gabe bei allen Probanden am 1. und 2. Tag in größeren Mengen vorhanden. Digoxin wird bei 5 Probanden in sehr geringen Mengen im Nativharn nachgewiesen, wobei nur bei 2 Probanden noch eine Ausscheidung am 2. Tag stattfindet. Im chloroformextrahierten Harn sind weder Digitoxin- noch Digoxinmetaboliten vorhanden.

Da Digoxin im Nativharn nach oraler und i.v.-Gabe von Digitoxin nur in sehr geringen Mengen nachgewiesen werden konnte, wurden die Digoxinmetaboliten nicht weiter aufgetrennt und daher in den folgenden Tabellen nicht genauer aufgeführt.

Die Einzelergebnisse der renalen Ausscheidung der chloroformlöslichen, mittels HPLC getrennter Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag werden in den Tabellen VI und VII angegeben. Nach oraler Gabe von Digitoxin (Tab. VI) wird von allen Probanden am 1. und 2. Tag unverändertes Digitoxin in größeren Mengen ausgeschieden. Bei 4 Probanden ist am 1. Tag Bisdigitoxosid in geringen Mengen nachweisbar und ebenfalls bei 4 Probanden in geringen Mengen Monodigitoxosid, das bei 2 Personen nur am 1. Tag und bei den anderen beiden Personen am 1. und 2. Tag ausgeschieden wird. Bei 4 Versuchspersonen ist am 1. Tag Digitoxigenin im Urin zu finden. Bei allen Probanden sind in den Zwischenfraktionen nach Abtrennung der genannten Metaboliten mittels HPLC noch größere Mengen an unidentifizierbaren Metaboliten nachweisbar. Die Tab. VII enthält eine Übersicht über Ausscheidung der chloroformlöslichen Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach i.v.-Applikation. Bei allen Probanden werden wiederum größere Mengen an unverändertem Digitoxin am 1. und 2. Tag ausgeschieden. Bisdigitoxosid ist nur bei 1 Person am 1. Tag und bei 2 Personen am 2. Tag im Urin zu finden. Monodigitoxosid ist bei 5 Versuchspersonen nachweisbar, davon bei 3 Personen nur am 1. Tag. Digitoxigenin wird von 5 Probanden am 1. und 2. Tag in größeren Mengen ausgeschieden. Bei allen Personen lassen sich wiederum größere Substanzmengen nachweisen, die nicht zu identifizieren sind.

Die mittlere prozentuale Ausscheidung der chloroformunlöslichen Digitoxin- bzw. Digoxinmetaboliten, sowie der chloroformlöslichen Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach oraler Gabe ist in Tabelle VIII dargestellt. Unverändertes Digitoxin wird an beiden Tagen als größter prozentualer Anteil ausgeschieden. Monodigitoxosid wird zu einem geringeren Prozentsatz am 1. und 2. Tag nachgewiesen. Das Genin und Bisdigitoxosid

werden nur am 1. Tag in geringer Menge gefunden. An beiden Tagen liegen erhebliche Anteile in Form nicht zu identifizierender Substanz vor. Im chloroformextrahierten Harn wird kein Digoxin und nur ein geringer Anteil an Digitoxin nachgewiesen.

Nach i.v.-Applikation (Tabelle IX) sind im chloroformextrahierten Harn weder Digitoxin- noch Digoxinmetaboliten nachweisbar. Bei den chloroformlöslichen Metaboliten nimmt das Digitoxin am 1. und 2. Tag das größte prozentuale Ausmaß an. Bisdigitoxosid wird zu einem geringen Prozentsatz in den ersten 12 Stunden und am 2. Tag ausgeschieden. Genin und Monodigitoxisid werden am 1. und 2. Tag gefunden, wobei das Genin einen größeren Prozentsatz bei der Metabolitenausscheidung aufweist als das Monodigitoxosid. Die unidentifizierbaren Substanzen haben ebenfalls an beiden Tagen einen höheren prozentualen Anteil am Metabolitenspektrum.

Innerhalb der ersten 24 Stunden nach oraler Digitoxingabe wurden im Mittel folgende Metaboliten gefunden: 38,1 % unverändertes Digitoxin, 10 % Bisdigitoxosid, 6,6 % Monodigitoxosid, 10,7 % Genin, maximal 1 % Digoxin, 7,7 % $CHCl_3$ unlösliche und 26,4 % unidentifizierte Metaboliten bei einer Gesamtausscheidung von 15,1 % der applizierten Dosis in 14 Tagen und 2,7 % der Dosis in 24 Stunden.
Nach intravenöser Applikation ergab sich innerhalb der ersten 24 Stunden im Mittel das folgende Metabolitenspektrum: 49,9 % unverändertes Digitoxin, 0,8 % Bisdigitoxosid, 7,7 % Monodigitoxosid, 25,7 % Genin, maximal 1 % Digoxin keine $CHCl_3$ unlöslichen und 18,1 % unidentifizierte Metaboliten bei einer Gesamtausscheidung von 15,4 % der applizierten Dosis in 14 Tagen und 2,3 % der Dosis in 24 Stunden.

Tab. IV: Digitoxin- und Digoxingehalt im Nativharn und im $CHCl_3$-extrahierten Harn nach einmaliger oraler Gabe von 0,5 mg Digitoxin bei 6 Probanden am 1. und 2. Tag.

Proband		Nativharn Digitoxin ng/Gesamt $^{+}$)	Nativharn Digoxin ng/Gesamt $^{+}$)	$CHCl_3$unlösl. Digitoxin ng/Gesamt $^{+}$)	$CHCl_3$unlösl. Digoxin ng/Gesamt $^{+}$)	Harnvolumen (ml)
G	I	5860	248	2635	0	310
	II	3580	0	1219	0	230
	III	4670	96	0	0	480
	IV	11170	0	0	0	1090
L	I	7770	0	0	0	360
	II	2860	0	0	0	260
	III	4570	0	0	0	300
	IV	6400	0	0	0	1260
B	I	9100	0	0	0	900
	II	3850	0	0	0	550
	III	7460	0	0	0	1580
	IV	7820	0	0	0	1180
P	I	3630	30	0	0	300
	II	3990	0	0	0	820
	III	4590	210	0	0	670
	IV	5640	0	0	0	950
A	I	4870	120	1200	0	200
	II	3310	0	0	0	230
	III	5060	0	884	0	340
	IV	5740	0	2260	0	1130
K	I	2070	120	0	0	150
	II	1330	128	0	0	160
	III	2660	140	0	0	280
	IV	5030	0	0	0	960

I : 0 - 6 Std.
II : 6 - 12 Std.
III: 12 - 24 Std.
IV : 2. Tag

$^{+}$) auf Digitoxin bzw. Digoxin berechnete radioimmunologische Aktivität

Tab. V: Digitoxin- und Digoxingehalt im Nativharn und im $CHCl_3$-extrahierten Harn nach einmaliger i.v.-Applikation von 0,5 mg Digitoxin bei 6 Probanden am 1. u. 2.Tag

Proband		Nativharn Digitoxin ng/Gesamt +)	Nativharn Digoxin ng/Gesamt +)	$CHCl_3$unlösl. Digitoxin ng/Gesamt +)	$CHCl_3$unlösl. Digoxin ng/Gesamt +)	Harnvolumen (ml)
G	I	2860	60	0	0	200
	II	2880	0	0	0	270
	III	6240	0	0	0	430
	IV	9600	0	0	0	1170
L	I	2390	240	0	0	200
	II	1830	60	0	0	200
	III	4040	42	0	0	420
	IV	8210	0	0	0	1100
B	I	7610	0	0	0	710
	II	3550	0	0	0	420
	III	6180	0	0	0	1535
	IV	9020	0	0	0	1100
P	I	2450	60	0	0	200
	II	2910	0	0	0	650
	III	6790	0	0	0	840
	IV	5540	0	0	0	1290
A	I	6970	0	0	0	680
	II	2890	0	0	0	340
	III	4640	0	0	0	410
	IV	4660	258	0	0	860
K	I	2850	132	0	0	330
	II	1560	60	0	0	200
	III	1600	156	0	0	260
	IV	7160	86	0	0	860

I : 0 - 6 Std.
II : 6 - 12 Std.
III: 12 - 24 Std.
IV : 2. Tag

+) auf Digitoxin bzw. Digoxin berechnete radioimmunologische Aktivität

Tab. VI: Renale Ausscheidung von chloroformlöslichen mittels HPLC getrennten Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach oraler Gabe von 0,5 mg bei 6 Probanden

Proband		Digitoxin bzw. Digitoxinmetaboliten					Harnvolumen (ml)
		0 ng/Ges.	1 ng/Ges.	2 ng/Ges.	3 ng/Ges.	unidentifizi. ng/Gesamt	
G	I	465	465	0	2387	589	310
	II	736	0	0	897	598	230
	III	1296	0	0	3120	0	480
	IV	0	1744	0	4033	0	1090
L	I	1368	0	792	2376	1944	360
	II	598	0	0	1248	988	260
	III	780	0	570	1530	0	300
	IV	0	0	0	4158	5796	1260
B	I	1800	0	0	1700	5220	900
	II	1760	825	0	1705	275	550
	III	0	0	2844	1896	0	1580
	IV	0	2360	0	4366	3068	1180
P	I	0	0	0	1500	1500	300
	II	0	0	0	1804	2378	820
	III	0	0	0	3283	1072	670
	IV	0	0	0	2945	2565	950
A	I	0	360	540	960	800	200
	II	322	529	276	828	874	230
	III	0	0	0	1292	544	340
	IV	0	0	0	2938	2486	1130
K	I	0	360	345	270	0	150
	II	0	352	256	256	288	160
	III	0	0	0	756	1232	280
	IV	0	0	0	864	3456	960

I : 0 - 6 Std.
II : 6 - 12 Std.
III: 12 - 24 Std.
IV : 2. Tag

O: Genin
1: Monodigitoxosid
2: Bisdigitoxosid
3: Digitoxin

unidentifizi.: Glykosidgehalt in den Zwischenfraktionen nach Abtrennung der Metaboliten des Digitoxins mittels HPLC.

Tab. VII: Renale Ausscheidung von chloroformlöslichen mittels HPLC getrennten Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach i.v.-Gabe von 0,5 mg bei 6 Probanden

Proband		Digitoxin bzw. Digitoxinmetaboliten					Harnvolumen (ml)
		0 ng/Ges.	1 ng/Ges.	2 ng/Ges.	3 ng/Ges.	unidentifizi. ng/Gesamt	
G	I	0	0	0	1420	720	200
	II	0	0	0	1647	1269	270
	III	0	0	0	3010	1247	430
	IV	0	1638	1053	2808	4446	1170
L	I	0	300	300	1080	540	200
	II	260	0	0	660	260	200
	III	588	0	0	1050	420	420
	IV	880	0	0	2310	3520	1100
B	I	1136	0	0	1278	3905	710
	II	798	546	0	1428	0	420
	III	4451	2303	0	1535	0	1535
	IV	3190	1980	0	3630	0	1100
P	I	500	0	0	1360	600	200
	II	1690	0	0	2210	715	650
	III	2520	0	0	2352	0	840
	IV	3354	0	0	1290	2580	1290
A	I	1836	0	0	4148	0	680
	II	748	442	0	2074	816	340
	III	1353	902	0	3690	738	410
	IV	2494	0	0	2924	1720	860
K	I	924	594	0	1947	0	330
	II	780	500	0	660	0	200
	III	962	0	0	468	0	260
	IV	2666	0	2150	3784	2150	860

I : 0 - 6 Std.
II : 6 - 12 Std.
III: 12 - 24 Std.
IV : 2. Tag

0: Genin
1: Monodigitoxosid
2: Bisdigitoxosid
3: Digitoxin

unidentifizi: Glykosidgehalt in den Zwischenfraktionen nach Abtrennung der Metaboliten des Digitoxin mittels HPLC

Tab. VIII: Mittlere renale Ausscheidung chloroformunlöslicher Digitoxin- bzw. Digoxin-metaboliten sowie der chloroformlöslichen Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach einmaliger oraler Gabe von 0,5 mg Digitoxin (n = 6).

Mittelwerte I - IV	$CHCl_3$unlösl. Digitoxin-metaboliten %	$CHCl_3$unlösl. Digoxin-metaboliten %	Digitoxin bzw. Digitoxinmetaboliten				
			0 %	1 %	2 %	3 %	unidenifizi. %
Mittelwert I $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	11,9 (± 7,6)	0	8,1 (± 4,2)	8,9 (± 5,9)	8,2 (± 5,9)	32,6 (± 4,4	28,3 (± 9,5)
Mittelwert II $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	5,9 (± 5,9)	0	14,6 (± 5,5)	10,9 (± 5,3)	8,6 (± 4,2)	30,3 (± 4,5)	33,0 (± 5,4)
Mittelwert III $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	5,4 (± 5,4)	0	9,4 (± 1,3)	0	13,3 (± 2,9)	51,5 (± 8,1)	17,8 (± 9,9)
Mittelwert IV $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	4,9 (± 4,9)	0	0	9,1 (± 5,6)	0	44,3 (± 6,8)	41,4 (± 11,1)

I : 0 - 6 Std.
II : 6 -12 Std.
III: 12 -24 Std.
IV : 2. Tag

0: Genin
1: Monodigitoxosid
2: Bisdigitoxosid
3: Digitoxin

unidentif.: Glykosidgehalt in den Zwischenfraktionen nach Abtrennung der Metaboliten des Digitoxins mittels HPLC.

Tab. IX: Mittlere renale Ausscheidung chloroformunlöslicher Digitoxin- bzw. Digoxinmetaboliten sowie der chloroformlöslichen Metaboliten des Digitoxins am 1. und 2. Tag nach einmaliger i.v.-Gabe von 0,5 mg Digitoxin (n = 6).

Mittelwerte I - IV	$CHCl_3$unlösl. Digitoxinmetaboliten %	$CHCl_3$unlösl. Digoxinmetaboliten %	Digitoxin bzw. Digitoxinmetaboliten				
			0 %	1 %	2 %	3 %	unidentifi. %
Mittelwert I $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	0	0	16,0 (± 5,4)	5,1 (± 3,3)	2,3 (± 2,3)	54,2 (± 7,5	27,4 (± 8,3)
Mittelwert II $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	0	0	24,3 (± 5,9)	9,4 (± 4,6)	0	49,5 (± 3,4	16,8 (± 6,6)
Mittelwert III $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	0	0	36,9 (± 10,2)	8,6 (± 4,5)	0	46,1 (± 7,4)	10,1 (± 5,1)
Mittelwert IV $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	0	0	23,3 (± 6,7)	6,5 (± 2,7)	5,1 (± 1,9)	33,0 (± 3,6)	29,5 (± 7,7)

I : 0 - 6 Std.
II : 6 - 12 Std.
III: 12 - 24 Std.
IV : 2. Tag

0: Genin
1: Monodigitoxosid
2: Bisdigitoxosid
3: Digitoxin

unidentif.: Glykosidgehalt in den Zwischenfraktionen nach Abtrennung der Metaboliten des Digitoxins mittels HPLC

Tab. X zeigt das Ausmaß der einzelnen Metabolisierungsschritte innerhalb der ersten beiden Tage nach einmaliger Digitoxingabe. Das unveränderte Digitoxin überwiegt bei beiden Applikationsarten im Metabolitenspektrum. Auffällig ist, daß das unveränderte Digitoxin am 2. Tag nach oraler Gabe eher an Menge zunimmt und am 2. Tag nach i.v.-Applikation deutlich abnimmt (orale Applikation: 38,1 % und 44,3 %, i.v.-Applikation: 49,9 % und 33,0 %). Gleichzeitig mit der zunehmenden Ausscheidung des unveränderten Digitoxins nehmen nach oraler Gabe die Hydrolyse- und Konjugationsreaktionen am 2. Tag ab (Hydrolyse: von 27,3 % auf 9,1 %, Konjugation: 7,7 % auf 4,9 %). Nach i.v.-Applikation findet man einen gleichbleibenden Anteil der Hydrolysereaktionen (34,2 % und 34,9 %) und nicht nachweisbare Konjugationsreaktionen. Der Hydroxylierung scheint mit einem Anteil von maximal 1 % nach beiden Applikationsarten keine große Bedeutung zuzukommen.
Die unidentifizierten Substanzen nehmen nach oraler und i.v.-Gabe am 2. Tag zu.

Tab. X: Mittleres prozentuales Ausmaß der Metabolisierungswege des Digitoxins im Urin am 1. und 2 Tag nach einmaliger oraler bzw. i.v.-Gabe von 0,5 mg. (n = 6)

	unverändertes Digitoxin	Hydrolyse (O, 1, 2)	Konjugation	Hydroxylierung (Digoxin)	unidentif.
Orale Applikation					
1. Tag	38,1 %	27,3 %	7,7 %	max. 1 %	26,4 %
2. Tag	44,3 %	9,1 %	4,9 %	max. 1 %	41,4 %
i.v.-Applikation					
1. Tag	49,9 %	34,2 %	-	max. 1 %	18,1 %
2. Tag	33,0 %	34,9 %	-	max. 1 %	29,5 %

O: Genin
1: Monodigitoxosid
2: Bisdigitoxosid

unidentif.: Glykosidgehalt in den Zwischenfraktionen nach Abtrennung der Metaboliten des Digitoxins mittels HPLC.

E Diskussion

1) Eliminationskinetik von Digitoxin nach einer einmaligen intravenösen und oralen Gabe von 0,5 mg

Das Ergebnis der 14-tätigen Gesamtausscheidung von Digitoxin nach oraler (15,1 % der Dosis) und i.v. Gabe (15,4 %) steht in guter Übereinstimmung mit Ergebnissen, die Greeff u. Mitarb. 1979 (15) publizierten. In 10 Tagen wurde von den Autoren nach oraler bzw. i.v. Applikation von 0,5 mg Digitoxin 14,4 % und 12,4 % der Dosis gefunden. Bei der Extrapolation auf Unendlich nach i.v.- bzw. oraler Gabe ergaben sich etwas höhere Werte, und zwar 25 % der Dosis bzw. 27 % (eigene Werte: 22,8 % der Dosis bzw. 19,2 %).

In der Literatur gibt es zum Teil sehr unterschiedliche Ergebnisse zur Eliminationskinetik von Digitoxin, wie dies von Vöhringer und Rietbrock 1978 (16) zusammenfassend dargestellt worden ist. Zum Beispiel fanden Okita u. Mitarb. 1955 (17) innerhalb von 3 Wochen 70 % der applizierten Radioaktivität im Urin, Wirth u. Mitarb. 1976 (18) 45 % und Vöhringer und Rietbrock 1974 (20) ca. 26 %.
Nach Applikation von unmarkiertem Digitoxin wiesen Lukas 1971 und 1973 (21, 22) im gleichen Zeitraum 28 % und Storstein 1974 (19) ca. 32 % der Dosis nach. Eine Übersicht über die Ergebnisse der Autoren zeigt Tabelle XI.

Übereinstimmung besteht auch zu Befunden von Vöhringer u. Mitarb. 1977 (23), die innerhalb von 25 h nach i.v.- bzw. oraler Gabe von 0,5 mg Digitoxin eine stärkere renale Elimination bei oraler Gabe (19,7 µg) als bei i.v.-Applikation (14,2 µg) feststellten. Ähnliche Ergebnisse ermittelten Greeff und Mitarb. 1979 (15), die innerhalb der ersten 24 h nach oraler Applikation 17 µg und 9 µg nach i.v.-Applikation im Urin fanden. Bei den eigenen Untersuchungen ergab sich ebenfalls eine stärkere renale Elimination in den ersten 24 h nach oraler Gabe, allerdings ist die Differenz zur Ausscheidung nach i.v.-Gabe geringer.

Tab. XI: Renale Elimination von Digitoxin nach einmaliger Gabe beim Menschen. (Literaturauswahl)

Autoren	Applik.	Sammel-periode	Ausscheidung in % d. Dosis (als Radioaktivität)	Ausscheidung in % d.Dosis (unmarkiertes Digitoxin)
Okita u. Mitarb. (1955, n=3)	i.v.	21 Tage	70 %	
Vöhringer u.Rietbrock (1974, n=6)	p.o.	8 Tage	21,3 %	
Wirth u. Mitarb. (1976, n=5)	i.v.	10 Tage	37,5 $\pm$ 5,4 %	
Vöhringer u.Rietbrock (1978, n=5)	p.o.	8 Tage	22,5 $\pm$ 3,6 %	
Lukas (1971 u.1973, n=5)	p.o.	0 - ∞		26 - 30 %
Storstein (1974, n=5)	i.v.	8 Tage		15,8 %
Greeff u. Mitarb. (1979, n=6)	i.v. p.o.	10 Tage 10 Tage		12,4 % 14,4 %
eigene Werte (n=6)	i.v. p.o.	14 Tage 14 Tage		15,4 % 15,1 %

Bei der Berechnung der Eliminationshalbwertszeit besteht Übereinstimmung mit den Ergebnissen nach einmaliger i.v.-Applikation von Digitoxin bei Vöhringer u. Mitarbeitern (23): 8 Tage, Zilly (25): 9,4 Tage, Greeff u. Mitarb. (15): 9,8 Tage und Storstein (19): 10,7 Tage (eigener Wert: 8,7 Tage). Die Halbwertszeiten nach oraler Gabe von Digitoxin sind dagegen etwas länger (Vöhringer (23) und Greeff (15): 10,1 Tage (eigener Wert: 6,6 Tage). Nach einmaliger oraler Gabe von ^{3}H-Digitoxinlösung ermittelten Vöhringer und Rietbrock 1978 (16) eine Tritiumhalbwertszeit im Urin von 8,2 $\pm$ 4,8 Tagen, die mit der angegebenen Streuung wiederum in Einklang mit der berechneten Halbwertszeit dieser Arbeit und den Ergebnissen der genannten Autoren steht.

2) Metabolismus von Digitoxin im Urin nach einmaliger intravenöser und oraler Applikation

In dieser Arbeit werden nach Chloroformextraktion der Urinproben die Metaboliten des Digitoxins mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie getrennt und der Metabolitengehalt in den einzelnen Fraktionen radioimmunologisch bestimmt. Diese Methode ist in der gegenwärtigen Literatur ohne Analogie und wird daher mit den Resultaten bisheriger Extraktions- und und Bestimmungsmethoden diskutiert.

a) Unverändertes Digitoxin

Der Befund, daß der größte Teil des Metabolitenspektrums von unverändertem Digitoxin gebildet wird, findet sich bei mehreren Autoren. Wirth u. Mitarb. (1976; 18) gaben 79 % unverändertes Digitoxin an, Rietbrock u. Mitarb. (1977; 5) 75 %, Kuhlmann (1981; 24) 59,4 %, Zilly (1978; 25) 50-80 % und Storstein u. Amlie (1977; 26) nach 24 h 48,3 %. Die Untersuchungen von Storstein und Amlie sind im Gegensatz zu den anderen Arbeiten mit einem modifizierten ^{56}Rb-Assay, d.h. mit unmarkiertem Digitoxin durchgeführt worden und stimmen im Digitoxinanteil mit den eigenen Werten gut überein. Ganz andere Ergebnisse fanden sich bei Okita u. Mitarb. (1955; 4, 17), und zwar 6-10 % unverändertes

Digitoxin neben 60 - 64 % Metaboliten. Lüllmann u. Peters (1970; 27) konnten beim Menschen zu keinem Zeitpunkt unverändertes Digitoxin nachweisen.

b) Zuckerkettenabspaltung bzw. Hydrolyse

Die durch Hydrolyse entstandenen Metaboliten nehmen in dieser Arbeit ein größeres Ausmaß an als in der Literatur beschrieben wird. Auffällig ist der hohe Anteil an Digitoxigenin (8 % nach oraler und 25 % nach i.v.-Applikation). Digitoxigeninmonodigitoxosid und Digitoxigeninbisdigitoxosid werden nach oraler und i.v.-Applikation ebenfalls nachgewiesen (oral: 7 % und 8 %, i.v.: 7 % und 2 %).

Vöhringer und Rietbrock (20) sowie Wirth u. Mitarb. (18) fanden nur wenig lipidlösliche Metaboliten. Kuhlmann (24) ermittelte 3,1 % Bisdigitoxosid, Zilly (25) weniger als 10 % Bis-, Monodigitoxosid und Epidigitoxigenin. Bodem und Ochs (10) wiesen Mono- und Bisdigitoxosid sowie Epi- und Digitoxigenin in geringen Mengen nach.

Storstein u. Amlie (26) fanden bei 2 Versuchspersonen in 24 h nach einmaliger i.v.-Applikation 1,6 % und 2,3 % Bisdigitoxosid, 10,6 % und 2,6 % Monodigitoxosid und 1,1 % und 0 % Genin. Da die Untersuchungen dieser Autoren mit unmarkiertem Digitoxin durchgeführt wurden, sind sie am ehesten mit den eigenen Versuchen zu vergleichen. Die Ergebnisse stimmen bis auf den Geninanteil gut überein. Die Hydrolyse wurde bei allen genannten Autoren als Metabolisierungsschritt nachgewiesen, jedoch kann man aufgrund der unterschiedlichen Ergebnisse keine sichere Aussage zur Verteilung der einzelnen Metaboliten treffen.

c) Konjugation

Bei den eigenen Untersuchungen ergab sich im Metabolitenspektrum nur nach oraler Applikation von Digitoxin ein Anteil von 7 % an polaren Metaboliten. Lediglich bei 2 Versuchspersonen wurden konjugierte Verbindungen, dort aber in höherer Konzentration gefunden. Daher hatte der

Mittelwert von 7 % nur eine geringe Aussagekraft. Zilly (25) ermittelte 24 % polare Metaboliten, Wirth u. Mitarb. (18) 12 %, Storstein u. Amlie (26) im Mittel ca. 37 % jeweils nach i.v.-Gabe und Kuhlmann (24) 24,5 % nach oraler Applikation. Vöhringer und Rietbrock (20) fanden bei der weiteren Untersuchung der polaren Metaboliten 80 % unbekannte nichtkonjugierte Metaboliten, 16 % Glucuronide und 4 % Sulfate. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch Kuhlmann (24), der nach Spaltung der Konjugationsprodukte Monodigitoxosid, Epidigitoxigenin und Digoxin nachwies. Vöhringer und Rietbrock (16) fanden als Hauptspaltprodukt Monodigitoxosid, sowie kleine Mengen an Epidigitoxigenin und Digoxinmetaboliten. Bodem und Ochs (10) ermittelten als Spaltprodukt Digitoxin und hielten eine Konjugation auch bei den zuckerhaltigen Glykosiden für wahrscheinlich.
Storstein (28) fand bei ihren Untersuchungen, daß alle Metaboliten des Digitoxins auch in konjugierter Form vorlagen.
Bei den eigenen Untersuchungen konnte nach Glucuronidase/Sulfatase-Spaltung Digitoxin, Mono-, Bisdigitoxosid und Genin qualitativ nachgewiesen werden.

d) Hydroxylierung

Für den Metabolismus von Digitoxin scheint die Hydroxylierung von untergeordneter Bedeutung zu sein. In dieser Arbeit wurde maximal 1 % Digoxin nachgewiesen. Ähnliche Ergebnisse fanden sich bei Wirth u. Mitarb. (18) und bei Bodem und Ochs (10), die weniger als 2 % Digoxin ermittelten. Zilly (25) und Kuhlmann (24) fanden 9 - 20 % bzw. 13 %.
Bei Storstein (28) war Digoxin mit 25,5 % im Urin der Hauptmetabolit.
Eine Übersicht über das Metabolitenspektrum bei einigen der genannten Autoren zeigt die Tabelle XII.

Tab. XII: Metabolitenspektrum von Digitoxin im Urin nach einmaliger Gabe beim Menschen (Literaturauswahl)

Autoren	Appl.	Zeitraum	chloroformlösliche Metaboliten Digitoxin (rel. %)	0 (rel. %)	1 (rel. %)	2 (rel. %)	Digoxin (rel. %)	polare Metaboliten (rel. %)
Okita u.Mitarb. (1955)	i.v.	21 T.	6 - 10 %	insgesamt 60 - 64 % Metaboliten				
Wirth u.Mitarb. (1976)	i.v.	9 T.	79 %	wenig lipidlösliche Metab.			2 %	12 %
Zilly (1978)	i.v.	1 T.	50 - 80 %	insgesamt	10 %		9 - 20 %	24 %
Kuhlmann (1981)	p.o.	8 T.	59,4 %	--	--	3,1 %	13 %	24,5 %
Vöhringer u. Rietbrock (1974)	p.o.	8 T.	59,6 %	--	--	3,3 %	12,7 %	24,4 %
*Storstein (1977) (2 Probanden)	i.v.	1 T.	45,6 % 48,3 %	1,1 % --	10,6 % 2,6 %	1,6 % 2,3 %	13,6 % 8,0 %	ca. 37 %
*eigene Werte	i.v. p.o.	2 T. 2 T.	45 % 40 %	25 % 8 %	7 % 7 %	2 % 8 %	max. 1 % max. 1 %	-- 7 %

O: Digitoxigenin
1: Digitoxigeninmonodigitoxosid
2: Digitoxigeninbisdigitoxosid

* Bei diesen Autoren wurde unmarkiertes Digitoxin verwandt.
Die übrigen Autoren arbeiten mit markierten Glykosiden.

Chloroformunlösliche Metabolite kamen nur bei 2 Probanden nach oraler Applikation zum Nachweis und zwar - bezogen auf alle Versuchspersonen - zu einem Anteil von ca. 7 % der insgesamt nachweisbaren Verbindungen. Die Inkubation mit Glukuronidase/Sulfatase und die anschließende chromatographische Trennung ergab dabei Konjugate des Digitoxin sowie dessen Hydrolisierungsprodukte.

Neben unverändertem Digitoxin und den Spaltprodukten Digitoxinbisdigitoxosid, -monodigitoxosid und Digitoxigenin waren im Chloroformextrakt der Harnproben noch Verbindungen nachweisbar, die nicht identifiziert werden konnten. Ihr Anteil betrug an den beiden ersten Tagen nach oraler Gabe etwa 30 % und nach intravenöser Injektion etwa 21 % der radioimmunologisch insgesamt zum Nachweis gekommenen Metabolitenmenge.

G Literaturverzeichnis

(1) Friedman, M., R. Bine, S.O. Byers, C. Bland: The renal excretion of digitoxin in the normal subject after single and continuous administration of the drug. Circulation 2, 749 (1950)

(2) Friedman, M., S. St. George, R. Bine, S.O. Byers: The renal excretion of digitoxin in the acute and chronic cardiac patient. Circulation 6, 853 (1952)

(3) Okita, G.T., F.E. Kelsey, P.J. Talso, L.B. Smith, E.M.K. Geiling: Studies on the renal excretion of radioactive digitoxin in human subjects with cardiac failure. Circulation 7, 161 (1953)

(4) Okita, G.T., P.J. Talso, J.H.Curry, F.D. Smith, E.M.K, Geiling: Metabolic fate of radioactive digitoxin in human subjects. J. Pharmacol. 115, 371 (1955)

(5) Rietbrock, N., H.-F. Vöhringer, J. Kuhlmann: Der Metabolismus herzwirksamer Glykoside. Herz/Kreislauf 9, 825 (1977)

(6) Repke, K.: Metabolism of cardiac glycosides. First Int. Pharm. Meeting 3, 47 (1961)

(7) Schmoldt, A., C. Rohloff: Dehydro-digitoxosides of digitoxigenin. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 305, 167 (1978)

(8) Hermann, I., K.R.H. Repke: Epimerisierung und Hydroxylierung von digitaloiden Steriodlaktonen durch Fermente der Leber. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 248, 351 (1964)

(9) Ashley, J.J., B.T. Brown, G.T. Okita, S.E. Wright: The metabolites of cardiac glycosides in human urine. J. biol. Chem. 232, 315 (1958)

(10) Bodem, G., H.R. Ochs: Metabolismus und Ausscheidung von Digitoxin. In: Greeff, K., N. Rietbrock (eds.), Digitoxin, S. 101, Schattauer-Verlag (1978)

(11) Verspohl, E.: Entwicklung radioimmunologischer Methoden zur Bestimmung von Glykosiden des Digitoxigenins, g-Strophanthins und k-Strophanthidins mit Untersuchungen zur Pharmakokinetik des Digitoxins und g-Strophanthins. Dissertation Düsseldorf (1973)

(12) Butler, V.P., J.P. Chen: Digoxin-specific antibodies. Proc. Nat. Acad. Sci. 57, 71 (1967)

(13) Strobach, H.: Radioimmunologische Bestimmung von Digitoxin. In: Greeff, K., N. Rietbrock (eds.), Digitoxin, S. 5, Schattauer-Verlag (1978)

(14) Greeff, K., D. Hafner, H. Strobach, K.E. Wirth: Vergleich der Bioverfügbarkeit bzw. enteralen Resorption des Digoxins, ß-Acetyldigoxins und ß-Methyldigoxins. Arzneim. Forsch. 27, II 12, 2358 (1977)

(15) Greeff, K., D. Hafner, H. Strobach, K.E. Wirth: Vergleich der biologischen Verfügbarkeit und renalen Elimination von Digitoxin und Digoxin. Herz/Kreislauf 11, Nr. 5, 221 (1979)

(16) Vöhringer, H.-F., N. Rietbrock: Renale und extrarenale Elimination von Digitoxin. In: Greeff, K., N. Rietbrock (eds.), Digitoxin, S. 114, Schattauer-Verlag (1978)

(17) Okita, G.T., P.J. Talso, J.H. Curry, F.D. Smith, E.M.K. Geiling: Blood level studies of C^{14}-digitoxin in human subjects with cardiac failure. J. Pharmacol. Exp. Ther. 113, 376 (1955)

(18) Wirth, K.E., J.C. Frölich, J.W. Hollifield, F.C. Falkner, B.S. Sweetman, J.A. Oates: Metabolism of digitoxin in man and its modification by spironolactone. Europ. J. clin. Pharmacol. 9, 345 (1976)

(19) Storstein, L.: Renal excretion of digitoxin and its cardioactive metabolites. Studies on digitalis. I. Clin. Pharmacol. Ther. 16, 14 (1974 a)

(20) Vöhringer, H.-F., N. Rietbrock: Metabolism and excretion of digitoxin in man. Clin. Pharmacol. Ther. 16, 796 (1974)

(21) Lukas, D.S.: Some aspects of the distribution and disposition of digitoxin in man. Ann. N.Y. Acad. Sci. 179, 338 (1971)

(22) Lukas, D.S.: Pharmacokinetics and metabolism of digitoxin in man. In: Symposium on digitalis. Storstein, O. (ed.), S. 84, Gyldendal Norsk Forlag, Oslo (1973)

(23) Vöhringer, H.-F., H.-M. Wagenstein, N. Rietbrock: Die biologische Verfügbarkeit von Digitoxin. Fortschr. Med. 95, 2323 (1977)

(24) Kuhlmann, J.: Metabolismus von Digitoxin. In: Kochsiek, K., N. Rietbrock, H. Heusinger (eds.), Digitalistherapie bei Herzinsuffizienz, S. 9, Urban u. Schwarzenberg-Verlag (1981)

(25) Zilly, W.: Digitoxin bei akuter und chronischer Leberinsuffizienz. In: Greeff, K., N. Rietbrock (eds.), Digitoxin, S. 199, Schattauer-Verlag (1978)

(26) Storstein, L., J. Amlie: Some kinetic aspects of digitoxin metabolism. Studies on digitalis. IX. Clin. Pharmacol. Ther. 21, 255 (1977)

(27) Lüllmann, H., T. Peters: The cardioactivity of digitoxin metabolites. European J. Pharmacol. 14, 204 (1971)

(28) Storstein, L.: Digitoxin metabolism on a maintenance regimen and after a single dose. Studies on digitalis. VIII. Clin. Pharmacol. Ther. 21, 125 (1977 a)

H Herrn Prof. Dr. K. Greeff danke ich für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. K. Wirth für seine Anregungen und Herrn Dipl.-Chem. H. Strobach für die technische Beratung und für die Unterstützung bei der Auswertung der Versuche.

I Lebenslauf

Name:	Renate Pätzold, geb. Pintzke
Wohnort:	Angerstr. 11, 4030 Ratingen 1
Geburtstag und -ort:	15. Januar 1956 in Mülheim/Ruhr
Ehemann:	Bernd Pätzold
Eltern:	Hans Pintzke, Kaufmann, und Käthe Pintzke, geb. Nowack

Ausbildungsgang:

1962 - 1966	Volksschule am Oemberg, Mülheim/Ruhr
1966 - 1974	Luisenschule, Städt. Gymnasium, Mülheim/Ruhr
6. Juni 1974	Reifeprüfung an der Luisenschule
1974 - 1975	Studium der Chemie in Bochum
1975 - 1976	Studium der Biologie und Chemie in Bonn
1976 - 1982	Studium der Medizin in Düsseldorf
3. Mai 1982	Ärztliche Prüfung in Düsseldorf und Krefeld
3. Juni 1982	Erteilung der Approbation als Arzt
1. Juli 1982	Assistenzärztin in der Kinderklinik des Marienhospitals Bottrop